

2017



**MASTER EN ALTA
ESPECIALIZACION EN PLASTICOS
Y CAUCHOS UIMP-ICTP**

Autor: Luis Andrés Pérez Pérez

Tutor: Luis María Rodríguez Lorenzo

**PREPARACIÓN Y PROPIEDADES
REOLÓGICAS DE MACROMOLÉCULAS
DE POLICAPROLACTONA-IMIDAZOL**

UIMP



	Página
Resumen	1
1. Introducción	2
2. Procedimiento Experimental	3
2.1 Reactivos	3
2.2 Síntesis de la molécula 1,3-di (2-hidroxietil) imidazolio	3
2.3 Modificación de PCL con la molécula IMI imidazolio y BD	4
2.4 Técnicas de caracterización	5
3. Resultados y Discusión	7
3.1 Preparación del compuesto iónico hidroxilado	7
3.2 Incorporación del imidazol-diol a la cadena de PCL	9
4. Conclusiones	20
5. Bibliografía	21

Resumen

El objetivo de este proyecto es la preparación y caracterización de material polimérico obtenido a partir de una reacción tipo poliuretano, estando constituido a partir de unidades blandas de policaprolactona (PCL) y segmentos duros de diisocianato de hexametileno (HDI), 1,3-di (2-hidroxietil) imidazolio (IMI) y 1,4-butanodiol (BT).

Los polímeros obtenidos se han caracterizado fundamentalmente por ^1H -RMN, IR-ATR y HPLC. Por otro lado, se ha medido la influencia de la incorporación de los segmentos duros de HDI-IMI o HDI-BD en las propiedades térmicas y mecánicas. En las muestras sintetizadas las muestras con segmento blando de PCL ha mantenido su capacidad de cristalización, además de producirse un ligero aumento de hidrofilia y una disminución en el punto de fusión de la PCL, lo que mejora su procesabilidad. Se ha observado también como con la incorporación del segmento duro de HDI-IMI se obtiene una mejora en su estabilidad térmica con respecto a su homónima de HDI-BD. En cuanto a las propiedades mecánicas, no se ha observado una gran variación en el punto de fluencia ni en el módulo de Young.

Abstract

The goal of this project is the synthesis and characterization of a polyurethane made of soft segments of polycaprolactone (PCL) and hard segments of hexamethylen isocyanate (HDI), 1,3-di (2-hydroxyetil) imidazolium (IMI) or 1,4-butanediol (BT). Obtained polymers have been characterized by ^1H -NMR and GPC and the effect of the introduction of the hard segments in the thermal and mechanical properties evaluated. IMI and BT have been successfully incorporated into the PCL backbone. The soft segment has maintained the capacity to crystallize. Melting point of the obtained compounds is lower than melting point of PCL favoring the processability. The wettability is improved in comparison with the PCL as well. The compound with a lower ratio of hard segment also improved thermal stability. Variations in the fluency point and Young modulus have not been observed

1. Introducción

La ingeniería tisular es un campo multidisciplinar centrado en el desarrollo y aplicación de conocimiento para solucionar problemas médicos como la pérdida de tejido o un fallo orgánico. El objetivo principal de este proyecto es el desarrollo de material polimérico que pueda servir como andamio en regeneración de tejido.

Un andamio es una estructura porosa polimérica biodegradable con una forma pre-especificada y la cual es usada para reparar o remplazar tejido dañado además de proporcionar soporte mecánico. Actualmente, los polímeros biodegradables tienen un papel principal en la fabricación de estos dispositivos debido a su citocompatibilidad y biodegradabilidad. Los factores de diseño son unas las consideraciones más importantes en la fabricación de andamios. Para esta aplicación se han de tener en cuenta varias consideraciones como la fuerza mecánica, biocompatibilidad y afinidad celular, mientras se seleccionan materiales que permitan cumplir con las aplicaciones de la ingeniería de tejidos y la capacidad para soportar la formación de tejido de cartílago y una biodegradabilidad flexible.

La policaprolactona (PCL) es un poliéster alifático biodegradable el cual ha recibido una atención creciente debido a su bajo punto de fusión, buena permeabilidad de fármacos, biocompatibilidad, solubilidad, propiedades excepcionales de compatibilidad de la mezcla y capacidad de mantener sus propiedades mecánicas y físicas el tiempo suficiente para el crecimiento de tejido. Esta lenta degradación es debido a naturaleza semicristalina e hidrófoba, por lo que es usada en implantes a largo plazo y aplicaciones de liberación de medicamentos. Además, la PCL puede resistir el esfuerzo de cizallamiento y la deformación linealmente con el tiempo y cuando el esfuerzo es removido puede retornar a su estado original. Por otro lado, estas propiedades facilitan la fabricación y manipulación de la PCL en una amplia gama de andamios. No obstante, su lenta velocidad de degradación y la falta de adhesión e integración celular son sus principales inconvenientes[1].

Los líquidos iónicos pueden ser definidos como un tipo de sales orgánicas/inorgánicas las cuales presentan un punto de fusión por debajo de los 100°C. En los últimos años, estos líquidos iónicos han recibido una gran atención debido a sus propiedades excepcionales, como alta estabilidad térmica, baja inflamabilidad, presiones de vapor bajas, alta conductividad iónica y alta capacidad de solvatación para compuestos polares

y no polares[2]. En este proyecto se ha utilizado el compuesto imidazol, el cual es un compuesto orgánico presente en muchos productos naturales (especialmente alcaloides) y en bloques de construcción biológicos importantes. Los imidazoles sintéticos están presentes en muchos fungicidas, antimicóticos, antihipertensivos y anticancerígenos. Varios tipos de imidazoles sustituidos son inhibidores selectivos del óxido nítrico sintasa, lo que los hace objetivos farmacológicos interesantes en la inflamación, enfermedades neurodegenerativas y tumores del sistema nervioso[3]. Las sales de imidazolio son sales heteroaromáticas. El imidazol es un compuesto iónico el cual puede desprotonar por bases fuertes como el NaH para dar N-heterociclos de carbeno[4]. Su incorporación en un material polimérico podría mejorar las propiedades biológicas, permitir la adhesión de proteínas e inducir características antimicrobianas[5].

En este contexto, la investigación llevada a cabo en este trabajo tiene como fin mejorar la procesabilidad y la interacción biológica de la PCL, además de mantener sus propiedades mecánicas y de degradación mediante la introducción de la molécula iónica hidroxilada en base imidazol.

2. Procedimiento Experimental

2.1 Reactivos

Los reactivos necesarios para la síntesis de la molécula iónica hidroxilada fueron: imidazol y etóxido de sodio suministrado por Sigma-Aldrich y se utilizaron sin purificación previa. El reactivo 2-Bromoetanol se adquirió en Merck y también se utilizó sin purificación previa. En cuanto a los reactivos necesarios para la modificación de la PCL fueron: el reactivo PCL, con promedio en peso (Mn) entre 10000 y 80000, que fue adquirido en Sigma-Aldrich. El reactivo se fundió y se sometió a vacío antes de su utilización; el reactivo 1,4-Butanodiol, el catalizador Tin (II) 2 ethilhexanoato y el reactivo diisocianato de hexametileno (HDI), que fueron adquiridos en Sigma-Aldrich y se utilizaron sin purificación previa.

2.2 Síntesis de la molécula 1,3-di (2-hidroxietil) imidazolio

Se ha empezado el proyecto con la síntesis de la molécula iónica con base imidazol. En un matraz de fondo redondo se añadieron etanol (100ml) y etóxido sódico (10g) y,

después de enfriar a 0°C la mezcla se añadió imidazol (9,6g). Posteriormente, se calentó la mezcla a temperatura ambiente y se mantuvo durante 10 horas.

Después de este tiempo, se volvió a enfriar una vez más la mezcla a 0°C y se añadió el reactivo 2-Bromoetanol (22ml) y se dejó a esta temperatura reaccionar durante 12 horas. Posteriormente, se calentó la mezcla a 50°C y durante 48 horas. La mezcla resultante se centrifugo y filtro para eliminar productos secundarios y posteriormente se precipito el sobrenadante con éter etílico y finalmente se secó a vacío a 50°C. Tras la obtención del producto se procedió a su purificación, la cual consistió en lavados con una mezcla de cloroformo/metanol. El esquema de la reacción se puede observar en la siguiente figura (Figura 2.1)

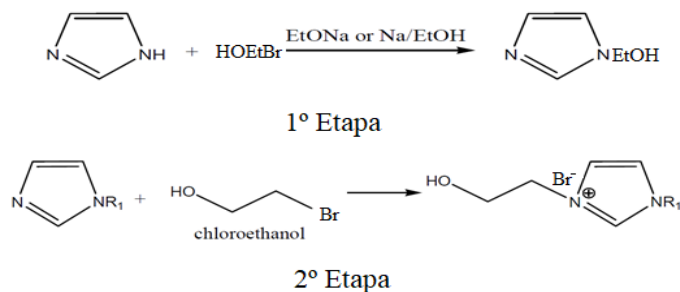


Figura 2.1. Reacción de síntesis de 1,3-di (2-hidroxietil) imidazolio.

En esquema de la reacción podemos observar cómo se puede dividir la reacción de la molécula en dos etapas. Una primera etapa donde se produce una sustitución nucleófilo/electrófilo sobre la molécula de imidazol y posteriormente una alquilación sobre la amina con doble enlace.

2.3 Modificación de PCL con la molécula IMI imidazolio y BD

Una vez sintetizada la molécula iónica se procedió a su incorporación en el esqueleto de la PCL. Además, se modificó PCL a partir de un compuesto no iónico como es el 1,4-butanodiol en las mismas condiciones que en la molécula de imidazol-diol para poder comparar así su influencia. En un matraz de fondo redondo se añadió PCL (5g), el material se fundió y se sometió a vacío durante 4 horas para secar el material. Posteriormente se añadió el medio de reacción, n,n-dimetilformamida (DMF, 15 ml), el reactivo diisocianato de hexametileno (HDI, 0,249 ml) y el catalizador Tin(II) 2 ethilhexanoato (15 µL) y se dejó reaccionar durante 3 horas a 80°C en atmósfera de nitrógeno. Transcurrido 3 horas, se ha añadido la molécula de imidazol-diol (250 mg)

disuelto en 1 ml de DMF y se continuó la reacción a 80°C durante 4 horas más. Finalmente, transcurrido el proceso de reacción, se añadió etanol para terminar los grupos isocianatos aún reactivos. Una vez finalizada la reacción, se precipitó el producto de la mezcla en éter etílico, posteriormente se disolvió en cloroformo y se volvió a re-precipitar una vez más en éter etílico para la eliminación del catalizador. La reacción del material polímero con la molécula no iónica 1,4-butanodiol se ha llevado a cabo por el mismo procedimiento que el citado para el imidazol-diol. El esquema de la reacción se puede observar en la siguiente figura (Figura 2.2).

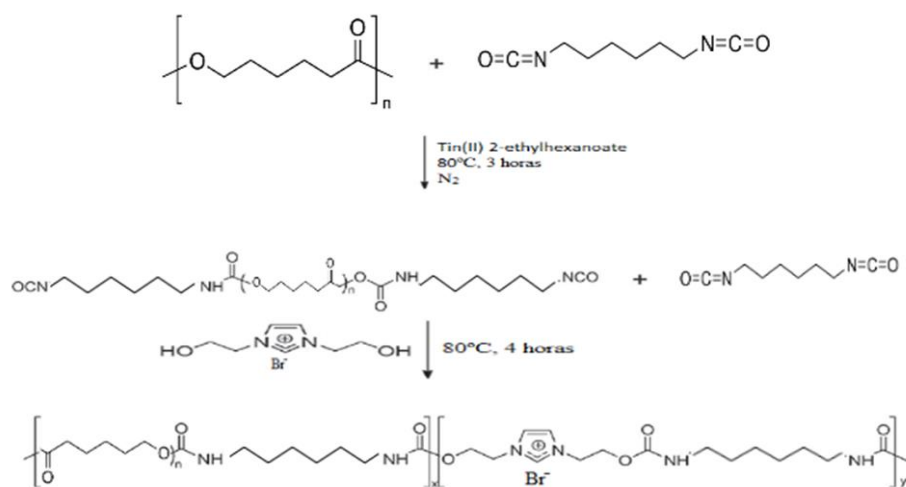


Figura 2.2. Reacción de modificación de PCL.

En el esquema de la reacción se puede observar como en la primera etapa de la reacción se realiza una reacción entre las macromoléculas de PCL con las de HDI estando este reactivo añadido en exceso. Posteriormente se añade la molécula imidazol-diol o 1,4-butanodiol como extensor de cadena para terminar la reacción. En cuanto a la estequiometría de la reacción, se ha de tener en cuenta que los grupos –OH pertenecientes a la macromolécula PCL y al imidazol-diol han de estar en estequiometría 1:1 con los grupos isocianato de la molécula HDI (NCO/OH=1).

2.4 Técnicas de caracterización

Las muestras se analizaron por Resonancia Magnética Nuclear de protón (^1H -RMN), los espectros fueron registrados en un equipo Inova Mercury- 400 MHz, usando metanol deuterado (CD_3OD) y Cloroformo deuterado (CDCl_3). Las muestras se han analizado por espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (IR-ATR), los ensayos se registraron en un espectrómetro PerkinElmer modelo Spectrum Two, la medida fue realizada en un rango de $600\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ con una resolución de 4 cm^{-1} y 16 escáneres.

Las muestras se analizaron por microanálisis CHN-S. El equipo utilizado fue un analizador LECO-932 y una balanza Mettler Toledo Ultra UMX2 con una temperatura máxima en el horno de 900°C.

La cromatografía de exclusión de tamaños (HPLC) se realizó en un cromatógrafo Perkin-Elmer equipado con una bomba isocrática Serie LC-250, conectado a un detector de índice de refracción Serie 200. El equipo consta de tres columnas conectadas en serie de poliestireno divinilbenceno de tamaño de poro de 103, 104 y 105 Å a 30°C. Como eluyente se utilizó n,n- dimetilformamida.

El equipo utilizado para el Análisis Termogavimétrico (TGA) ha sido TA Instrument Q500 el cual tiene una carga máxima de muestra de 1 gramo, una precisión de peso de $\pm 0.01\%$ y un rango de temperaturas que oscila desde temperatura ambiente hasta 1000°C. Las muestras se ensayaron en atm N₂, rango de temperaturas Tamb-600°C a 10°C/min. La Calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó un PerkinElmer modelo DSC -8500 con un rango de temperatura desde -180°C hasta 750°C el cual tiene un sistema de enfriamiento Intracooler. Las muestras se sometieron a un programa de temperaturas: Mantener por 5 min a 0°C; Calentar de 0°C a 150°C a una velocidad de 10°C/min; Mantener por 5 min a 150°C; Enfriar desde 150°C a 0°C a una velocidad “Ballistic Cool”; Mantener por 5 min a 0°C; Calentar desde 0°C a 150°C a una velocidad de 10°C/min. Se ha tomado el primer barrido en el análisis de resultados. El cálculo de la cristalinidad se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$X = \frac{1}{\Delta H_f^0} \cdot \frac{\Delta H_f}{W_{PCL}} (100); \text{Ecuación 2.1}$$

Dónde: ΔH_f^0 es la entalpía de fusión del 100% cristalino; ΔH_f es la entalpía de fusión del material y W_{PCL} la concentración en peso del componente.

El ángulo de contacto se midió en un KSV Theta goniometer. El volumen de las gotas se fijó en 3.0 µL y se utilizó una cámara con dispositivo de carga acoplada para capturar las imágenes de las gotas de agua para la determinación de los valores de ángulo de contacto. Los films se prepararon por la técnica de “cast” sobre una superficie de vidrio. Las medidas se han realizado para t=4s y t=60s.

Los ensayos de tracción se realizaron en una máquina de pruebas universal QTest Elite 1/L con capacidad de 1KN. Se ensayaron 5 muestras de cada composición con una

velocidad de 10 mm/min a temperatura ambiente utilizando una distancia de mordazas de 18mm y un espesor de probeta de 2mm. Los ensayos mecano-dinámicos (DMA) se realizaron utilizando una máquina de la casa Mettler Toledo modelo DMA861e. Las muestras se ensayaron en modo tensión en un rango de temperaturas de -100° a 30°C, una frecuencia de 1, 3 y 10 HZ y una velocidad de calentamiento de 2°c/min. El cálculo de la energía de activación se ha realizado a partir de la ecuación de Arrhenius:

$$f = f_0 \exp\left(-\frac{\Delta H}{RT}\right); \text{Ecuación 2.2}$$

Donde: ΔH es la energía de activación de la relajación; T es la temperatura en °K; y f es la frecuencia del experimento. La entalpía se obtiene del valor de la pendiente en un ajuste lineal de una gráfica con coordenadas $\ln f(\text{Hz})$ vs $1/T(\text{K}^{-1})$.

La absorción de luz uv-visible del grupo imidazolio en el material se analizó mediante espectroscopia de fluorescencia. El equipo utilizado fue Leica DMI-3000-B utilizando una lente de 4x aumentos y el conjunto de flitros para la obtención de fluorescencia verde y campo brillante.

Se ha llevado también el análisis de degradación del material en PBS pH 7,4 a 37°C como medio. El tiempo de seguimiento se ha terminado por establecer en los 48 días. Tras este tiempo se han secado las muestras en estufa y vacío y se ha procedido a comprobar si la muestra ha presentado una disminución de peso.

3. Resultados y discusión

3.1 Preparación del compuesto iónico hidroxilado

Tras la reacción bajo las condiciones descritas anteriormente y tras los procesos de lavados, se ha obtenido como producto un líquido viscoso marrón.



Figura 3.1. Muestra S-9.

La caracterización de la molécula ha empezado por ^1H -RMN, el espectro obtenido usando como disolvente CD_3OD ha sido el siguiente (Figura 3.2).

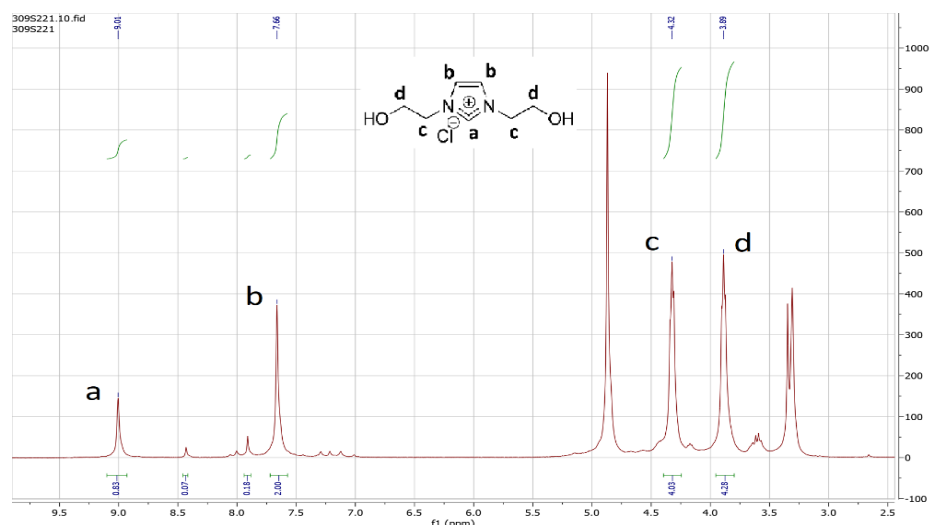


Figura 3.2. Espectro de ^1H en CD_3OD del compuesto obtenido.

Al analizar el espectro se han encontrado los siguientes desplazamientos, los cuales se pueden asignar de acuerdo a bibliografía [6]: 9 (H_a , s, 1H), 7.66 (H_b , s, 2H), 4.32 (H_c , t, 4H), 3.83 (H_d , t, 4H). Se puede comprobar de esta manera la obtención de la molécula iónica hidroxilada de imidazol.

A continuación, se ha procedido a analizar la molécula por análisis infrarrojo, el espectro obtenido ha sido el siguiente (Figura 3.3).

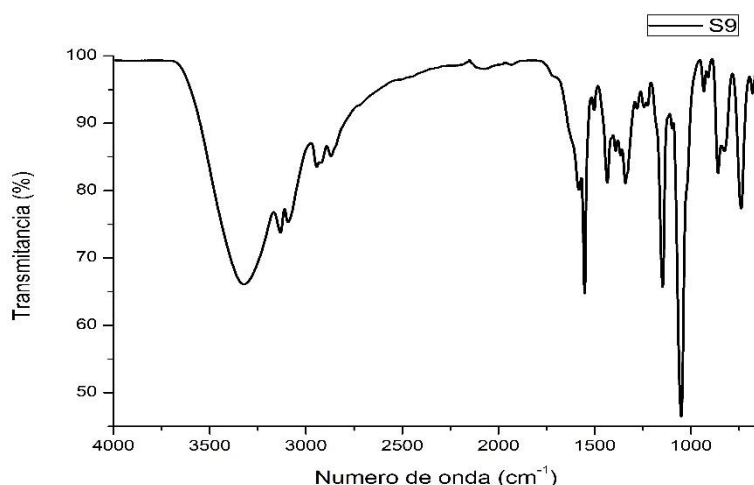


Figura 3.3. Espectro de IR-ATR del compuesto obtenido.

Al analizar el espectro se han encontrado las siguientes bandas de vibración, las cuales se pueden asignar de acuerdo a bibliografía [7, 8]: 3300 cm^{-1} (ancha) vibración de estiramiento del hidróxido ligado; 3130 cm^{-1} vibración de estiramiento C-H; 3090 cm^{-1}

vibración de estiramiento C-H; 2950 y 1930 cm^{-1} vibración de estiramiento CH_2 ; 1560 cm^{-1} vibración rock NCH; 1390 cm^{-1} vibración de estiramiento CN; 1150 cm^{-1} vibración rock N-C-H; 635 enlace oscilación CN. Para concluir la caracterización, se ha realizado además un análisis CHNS del producto obtenido, los resultados se adjuntan en la siguiente tabla (Tabla 3.1.):

Tabla 3.1. Composiciones elementales teóricas y experimentales del compuesto hidroxilado

Fracciones en masa de los elementos					
%C		%H		%N	
Teórico	Experimental	Teórico	Experimental	Teórico	Experimental
35.46	34.22	5.53	5.97	11.82	11.67

Se obtienen porcentajes experimentales similares a los teóricos. Se comprueba también por esta técnica la obtención del compuesto hidroxilado imidazol-diol.

3.2 Incorporación del imidazol-diol a la cadena de PCL

Se han sintetizado distintos materiales donde se ha variado el tipo de segmento duro y también su composición. A continuación, se adjunta una tabla con sus composiciones.

Tabla 3.2. Tipo de segmento duro utilizado, código de muestra, relación HDI/Diol/PCL y porcentaje de segmento duro en mol% y en peso%

Segmento duro (SD)	Muestra	HDI/Diol/PCL	SD (mol%)	SD(% peso)
HDI-BD	S-37	3/2/1	83.3	6.4
	S-43	5/4/1	90	10.7
HDI-IMI	S-41	3/2/1	83.3	8.9
	S-42	5/4/1	90	15.2

Se ha comenzado por la caracterización química del material. Para ello se han analizado las muestras por ^1H -RMN. Primero se procederá a analizar las señales de la PCL de peso molecular Mn 10000 (Figura 3.4).

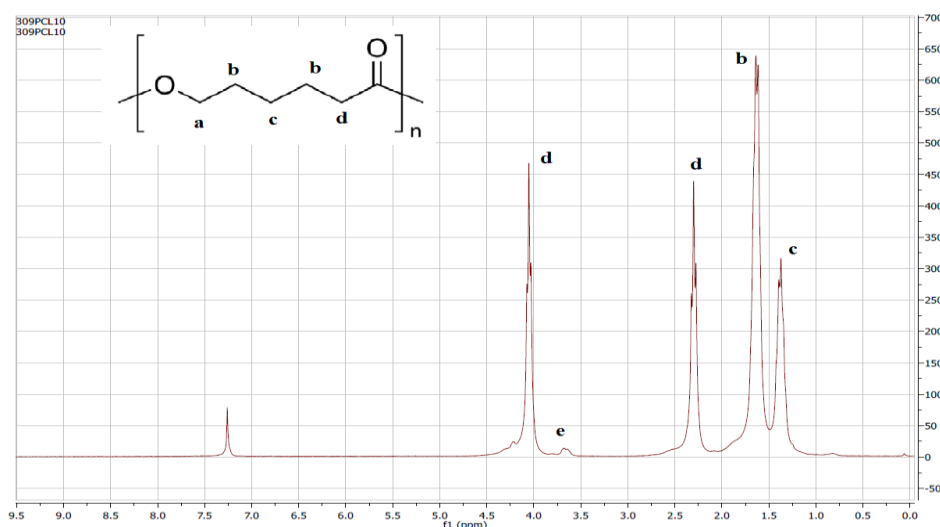


Figura 3.4. Espectro de ^1H en CD_3OD de PCL 10K.

Al analizar el espectro se han encontrado los siguientes desplazamiento, los cuales se pueden asignar de acuerdo a bibliografía [9]: 4.1 (H_a , 2H), 2.30 (H_d , 2H), 1.65 (H_b , 4H), 1.40 (H_c , 2H). Además, se puede identificar en el espectro las señales de los protones de los $-\text{CH}_2$ unidos a los $-\text{OH}$ terminales de la cadena en 3.7 (H_e , 2H).

Posteriormente, se han analizado los espectros de las composiciones con segmento duro HDI-IMI. A continuación, se adjunta la figura de la muestra S42 con mayor concentración de SD, ratio HDI/Diol/PCL 5/4/1, (Figura 3.5) e identifican las señales.

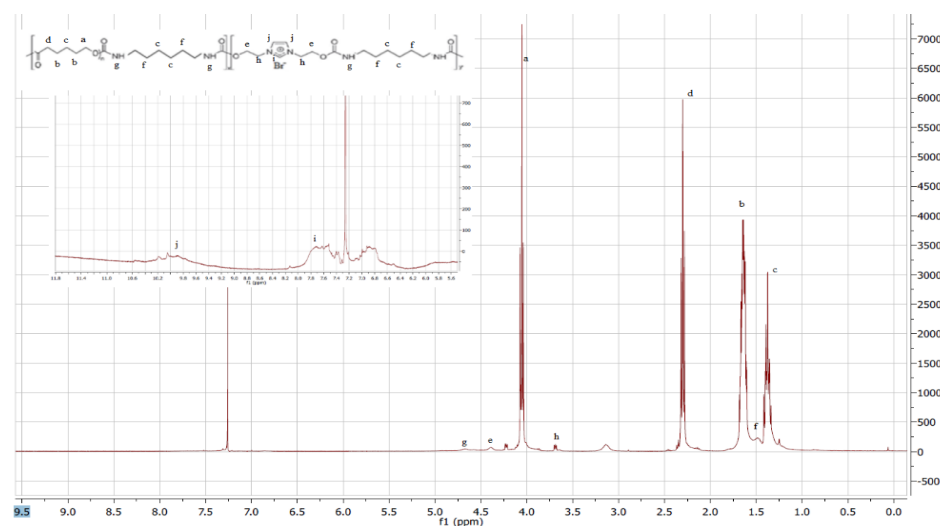


Figura 3.5. Espectro de ^1H en CD_3OD del S42.

Se ha observado la aparición de picos a desplazamientos 4.4 y 4.7 ppm que pueden ser asignados al segmento duro. Además, se observan señales a grandes desplazamientos que pueden ser asignados a los protones del anillo imidazol.

Se procede ahora al análisis de las muestras por IR-ATR. De la misma forma que antes, se ha analizado en primer lugar PCL-10k (Figura 3.6).

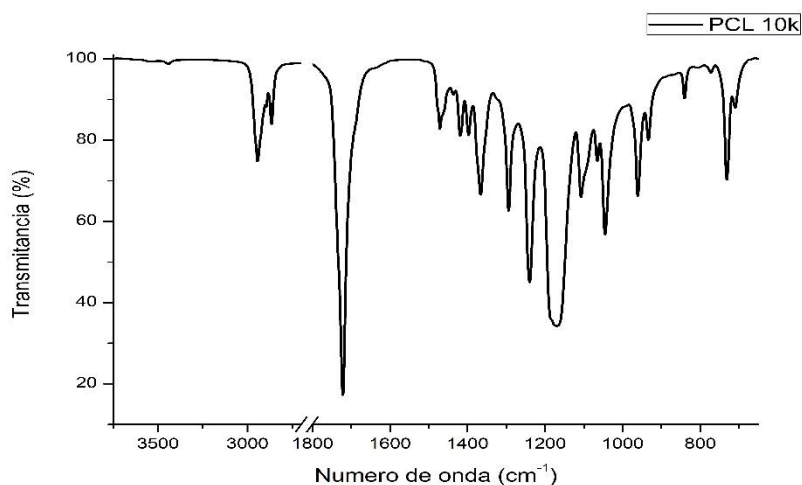


Figura 3.6. Espectro de IR-ATR de PCL-10K

Al analizar el espectro se han encontrado los siguientes picos, los cuales se pueden asignar según bibliografía [10, 11]: 3430 cm^{-1} vibración de estiramiento del hidróxido ligado; 2945 cm^{-1} vibración de estiramiento asimétrica CH_2 ; 2860 cm^{-1} vibración de estiramiento simétrica CH_2 ; 1723 cm^{-1} vibración de estiramiento carbonilo $\text{C}=\text{O}$; 1295 cm^{-1} vibración de estiramiento en la fase cristalina $\text{C}-\text{O}$ y $\text{C}-\text{C}$; 1235 cm^{-1} vibración estiramiento asimétrica COC ; 1190 cm^{-1} vibración estiramiento $\text{OC}-\text{O}$; 1160 cm^{-1} vibración estiramiento simétrica COC .

Posteriormente, se han analizado los espectros de las muestras con mayores concentraciones de segmento duro de HDI-IMI y HDI-BD (Figura 3.7).

Se ha observado la aparición de una banda en 3320 cm^{-1} en la región de los $\text{N}-\text{H}$ en las muestras S42 y S43, el cual pertenece a la amida del grupo uretano[12]. Se ha observado también la aparición de un hombro en las muestras con segmento duro HDI-BD (S37 y S43) en 1685 cm^{-1} , la cual puede deberse a vibración de carbonilo con puente de hidrogeno, mientras que la banda más intensa a 1720 cm^{-1} pertenece a la vibración del carbonilo libre. Este hombro no se produce en las muestras con segmento duro HDI-IMI, como la S42, esto sugiere que la muestra tiene menos componente de puente de hidrogeno, lo que puede ser debido a la cristalización del segmento duro [6]. Se observa también la aparición de una banda en 1530 cm^{-1} , la cual puede atribuirse a vibración de flexión $\text{N}-\text{H}$ y estiramiento $\text{C}-\text{N}$ en los grupos uretanos[11]. Se puede

confirmar por infrarrojo la incorporación de los segmentos duros a las cadenas de PCL por las bandas antes comentadas.

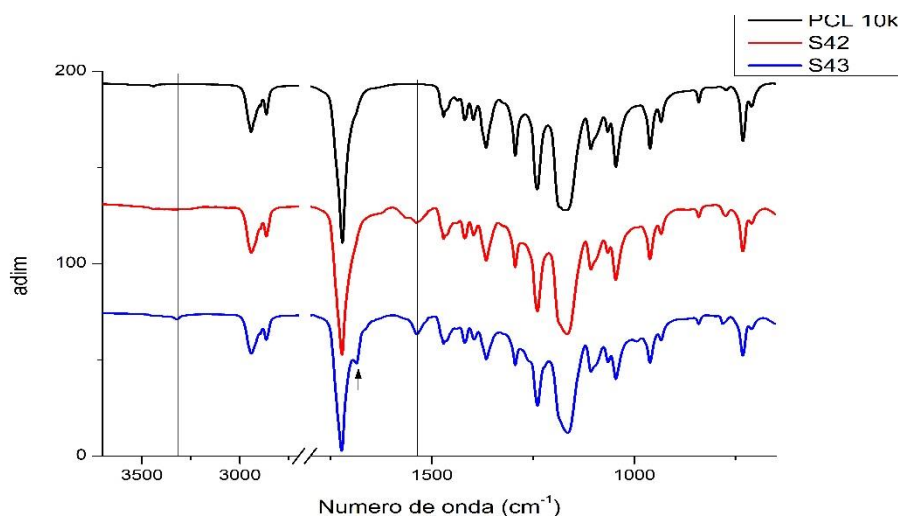


Figura 3.7. Espectro de IR-ATR de muestras PCL-10K, S42 y S43

Para examinar la composición real de las muestras se ha realizado un análisis elemental CHNS a los materiales obtenidos. Los resultados y las composiciones elementales teóricas se adjuntan en la siguiente tabla (Tabla 3.3.).

Tabla 3.3. Composiciones elementales teóricas y experimentales de las muestras S37, S41, S42 y S43

Compuest o	Fracciones en masa de los elementos					
	%C		%H		%N	
	Teóric o	Experimenta l	Teóric o	Experimenta l	Teóric o	Experimenta l
S37	63.15	62.03	8.77	8.86	0.008	0.88
S43	63.15	61.98	8.77	8.84	0.012	1.32
S41	63.15	61.06	8.77	8.68	0.013	1.29
S42	63.14	60.03	8.77	8.54	0.022	2.12

Los resultados experimentales obtenidos para el contenido de carbono e hidrógeno son similares a los teóricos, no obstante, la sensibilidad de estos elementos a la aparición del segmento duro es limitado ya que su composición en el material es pequeña. En el caso de las composiciones de nitrógeno teóricas se encuentran por debajo del error de medida. Sin embargo, al analizar las experimentales, se observa una tendencia que sí resulta reproducible, de S37 a S43 hay un aumento del nitrógeno teórico del 67% que es idéntico al incremento experimental. De S41 A S42 hay un aumento teórico del 59% y

del 61% experimental. Esto sugiere la incorporación del 1,4-butanodiol y de imidazolidiol en la cadena del polímero PCL.

Por último, se han observado las muestras por microscopía fluorescente (Figura 3.8). Las muestras de PCL cargadas con segmento duro HDI-IMI presentan fluorescencia al contar en su estructura con el grupo cromóforo imidazol que absorbe luz en la región del ultravioleta.

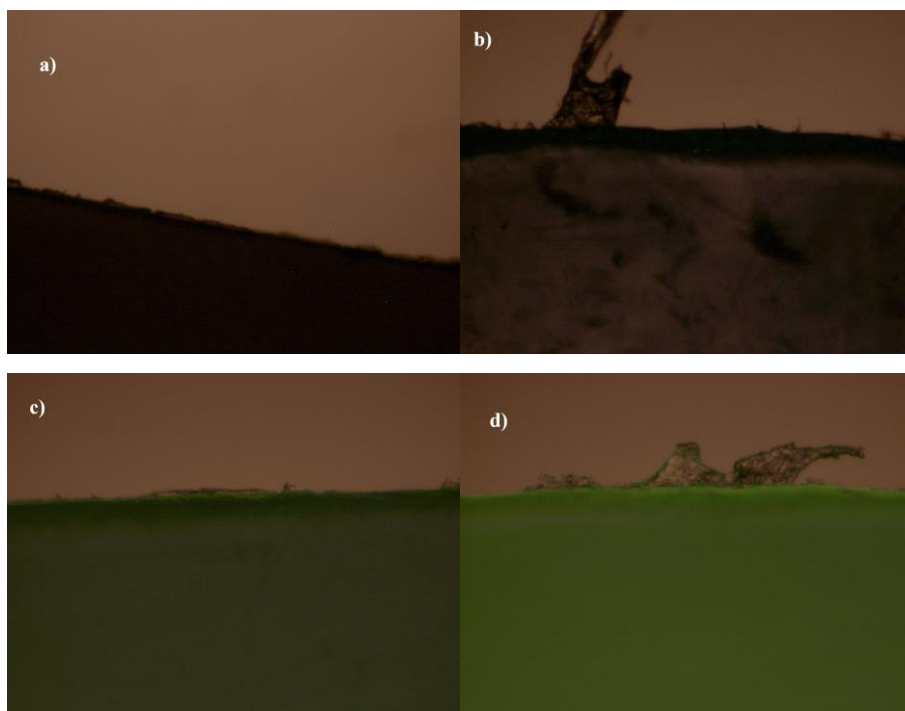


Figura 3.8. Espectroscopia fluorescente muestras: a) PCL-10K, b) S43, c) S41, d) S42

Se puede observar como las imágenes del film preparado a partir de PCL (M_n 10000) y la muestra S43 (SD HDI-BD) (Figura 3.8. a y b) no muestran fluorescencia obteniéndose una imagen en negro al no tener un grupo cromóforo en su estructura que pueda presentar desactivación emitiendo luz. Por otro lado, las imágenes de los films preparados de las muestras S41 y S42 (SD HDI-IMI) (Figura 3.8. c y d) presentan fluorescencia. Además de esto, se puede observar una mayor intensidad de fluorescencia en la muestra S42 con mayor concentración de imidazol en la muestra. Se puede confirmar de esta manera la incorporación del grupo imidazol en la cadena de PCL.

Una vez confirmada la formación de las moléculas deseadas, se procede a medir los pesos moleculares obtenidos por HPLC. Los resultados se muestran en la tabla 3.2.

Tabla 3.4. Peso molecular promedio en número (M_n), en peso (M_w) e índice de polidispersidad (M_w/M_n) de las muestras sintetizadas

Segmento duro	Muestra	M_w	M_n	M_w/M_n
-	PCL-10K	37833	26362	1,44
HDI-BD	S-37	158596	77688	2,04
	S-43	115229	62813	1,83
HDI-IMI	S-41	134702	68956	1,95
	S-42	91339	52442	1,74

Se obtienen materiales constituidas por oligómeros cuyo peso molecular M_w es aproximadamente, para todas las muestras sintetizadas, de 100000. Este peso molecular también que se ha incorporado segmento duro a la cadena de PCL ya que se produce crecimiento en la cadena al partir de una PCL comercial cuyo peso molecular M_w experimental nos arroja valores de 37000.

Se procede ahora a caracterizar y estudiar térmicamente las muestras por DSC y TGA. Por medio de los ensayos de TGA se comprobará la estabilidad térmica de las muestras, los resultados obtenidos se adjuntan a continuación (Figura 3.9)

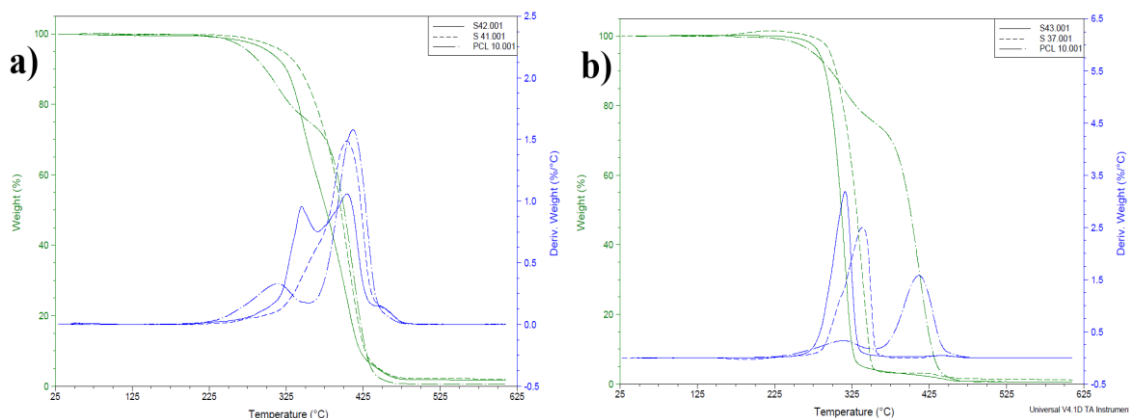


Figura 3.9. TGA muestras: a) PCL10K, S41 y S42; b) PCL10K, S37 y S43

Se puede observar al analizar las figuras como no se produce pérdida de peso en las muestras debida a volátiles o agua retenida al calentarlas a temperaturas próximas a 200°C. Para el estudio de las muestras se ha tenido como referencia la curva de estabilidad térmica de la PCL (M_n 10000) y se ha analizado como ha influido en ella la incorporación del segmento duro de poliuretano. Se puede observar como la degradación en este material se produce en dos etapas, esto concuerda lo consultado en bibliografía [13]. En una primera etapa (rango de 220-350°C, con un máximo de

degradación a 314°C), se produce la ruptura de cadenas de poliéster vía reacción de pirolisis del éster, mientras que una segunda etapa (rango de 350-450°C, con un máximo de degradación a 411°C) conduce a la formación del monómero por despolimerización.

Al analizar las muestras de material sintetizado con segmento duro HDI-BD se ha observado como la degradación se desplaza hacia la primera etapa de degradación. Esto puede ser debido a que el material degrada preferentemente por ruptura de cadenas de poliéster y no por despolimerización al requerir ésta segunda etapa la presencia de grupos terminales hidroxilos para llevarse a cabo. El efecto de este cambio de mecanismo de degradación produce una disminución térmica global del material. Se observa además como a mayor concentración de este segmento su estabilidad disminuye, esto es debido a que el grupo uretano tiene una estabilidad térmica inferior al grupo éster, por lo que inicia antes la degradación[14], la degradación en S37 se produce en un rango de 280-360°C y la muestra S43 se produce en un rango de 246-360°C. Por otro lado, al analizar las muestras con segmento duro HDI-IMI, no se ha observado una clara variación en la estabilidad térmica del material con respecto a la PCL de referencia, es decir, se puede confirmar como las muestra con este segmento duro mejora su estabilidad térmica frente a las muestras homónimas con segmento duro de HDI-BD. Hay que destacar también la disminución de estabilidad térmica que se produce al ir a mayores concentraciones de HDI-IMI, además de degradar el material en dos etapas, esto puede ser debido a la mayor concentración de grupo uretanos y a su peor estabilidad térmica como se ha comentado anteriormente.

Se ha procedido a continuación a estudiar las muestras por DSC. Por medio del uso de esta técnica se determinó las temperaturas de fusión de los materiales y la cristalinidad del segmento blando de PCL (los cuales se adjuntan en la Tabla 3.5). Para ello se ha teniendo en cuenta la cristalinidad de la PCL 100% cristalino[15]: $\Delta H_f = 135,4 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$.

Tabla 3.5. Puntos de fusión y cristalinidad de las muestras PCL-10K, S37, S41, S42 y S43

Muestra	T _f (°C)	delta H (J/g PCL)	Cristalinidad del segmento blando (PCL)
PCL 10K	67,9	95,8	71
S-37	59,1	62,7	50
S-43	55,8	62,2	51
S-41	58,5	72,7	59
S-42	57,5	74,6	65

Se puede observar en los datos como se produce una disminución del punto de fusión y de cristalinidad del segmento blando PCL al incorporar el segmento duro llegando a ver una variación de casi -10°C con respecto a la PCL (M_n 10000). Esto puede ser debido a que el segmento duro dificulta la cristalización del segmento blando, limita su movilidad y capacidad de cristalización, obteniéndose una peor cristalinidad.

Además, hay que destacar como la pérdida de cristalinidad es mayor en las muestras con segmento duro HDI-BD, además de encontrarse en la muestra con mayor concentración, (S43) un pico de fusión a 107°C el cual se puede atribuir a la fusión de este segmento duro[6]. Esta cristalización puede explicar la mayor pérdida de cristalinidad del segmento blando con respecto a las del segmento HDI-IMI. No obstante, esto no se observó en la muestra con mayor concentración de segmento duro HDI-IMI, esto es debido a que la molécula de imidazol elimina la capacidad de cristalización del segmento duro[6]. Por último, hay que destacar también, como la cristalinidad del segmento blando aumenta ligeramente al aumentar la concentración de segmento duro HDI-IMI, esto puede ser debido a que se produzca una mayor microseparación en las zonas amorgas resultantes de las muestras y aumente así ligeramente la cristalinidad.

A continuación, se ha procedido al análisis mecánico de las muestras. Para este estudio se han realizado ensayos de Análisis Mecano-dinámico y de tracción.

Por medio de los ensayos de DMA se han evaluado las relajaciones que ocurren en el material en función de la temperatura. A continuación, se adjuntan en la figura comparativa las gráficas obtenidas en el análisis DMA (Figura 3.10) y se han calculado también las energías de activación de las relajaciones producidas en las muestras a partir de los datos obtenidos en la tangente delta (Tabla 3.6). Los resultados de energías de activación obtenidas para las relajaciones que tienen lugar en las muestras en el rango de temperaturas de -40 a -10°C son altamente energéticas, esto descarta que pueden corresponderse con movimiento localizados (valores usualmente inferiores a 200 kJ/mol), lo que sugiere que se trata de movimientos generalizados asociados a la T_g de la PCL, la cual se encuentra a -58°C [16].

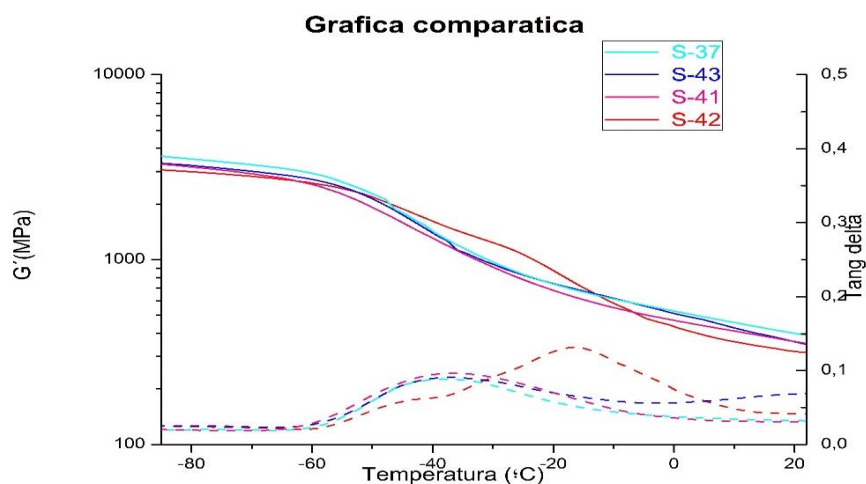


Figura 3.10. Curva de análisis DMA de las muestras S37, S43, S41 y S42 medidas a 1 Hz.

Tabla 3.6. Cálculo de la entalpía de activación de las muestras S37, S43, S41 y S42

Muestra	S37	S43	S41	S42
Frecuencia (Hz)	T(°K)	T(°K)	T(°K)	T(°K)
1	234,9	235,8	236,2	256,8
3	236,7	237,1	239,2	258,5
10	239,6	239,5	240,6	261,2
30	240,7	240,2	242,0	264,5
$\Delta H(\text{kJ/mol})$	259	332	277	243

Se puede observar en las figuras 3.10 como las muestras con segmento duro HDI-BD (S37 y S43) y la muestra con menor concentración de HDI-IMI (S41) presentan un desplazamiento de la Tg de la PCL de -58°C a temperaturas de aproximadamente -35°C. Esto puede ser debido a la rigidización que sufre la zona amorfa del material debido al segmento duro, estando este en más concentración debido a la cristalización del segmento blando de PCL. Hay que destacar como a mayor concentración de segmento duro HDI-IMI se ha observado un hombro a aproximadamente -40°C y un pico máximo a -15°C. Esto puede sugerir, como se ha comentado anteriormente, la existencia de una micro-separación de fases no uniforme en la zona amorfa donde en los dominios más enriquecidos de segmento duro se eleve la Tg a -15°C. En las curvas de módulo elástico, todas las muestras dibujan una zona de “plateau” bien definida desde -40 hasta donde llega la media, 22°C.

Se ha analizado a continuación las propiedades mecánicas por el ensayo de tracción, los resultados obtenidos de adjuntan a continuación (Tabla 3.7 y Figura 3.11). Se ha tener

en cuanto que para este ensayo se ha tenido como referencia PCL de Mn 80000, debido a que no se ha podido ensayar la PCL de Mn 10000 debido a su alto grado cristalinidad. Esto podría explicar también los datos obtenidos por el análisis DMA que se realiza a continuación, donde en la muestra S42 se observan dos relajaciones, una se desplaza a mayores temperaturas (-15°C) a la vez que se conserva un hombro a temperaturas ligeramente inferiores (-45°C), lo que como puede ser indicativo de una micro-separación no uniforme en material.

Tabla 3.7. Módulo elástico, tensión máxima, deformación de rotura y punto de fluencia de las muestras PCL-80K, S37, S41, S42 y S43

Muestra	Módulo de Young (MPa)		Tensión máxima (MPa)		Deformación de rotura (%)		Punto de fluencia (MPa)	
	Media	Desv Std	Media	Desv Std	Media	Desv Std	Media	Desv Std
PCL80k	279	15	43	3	972	148	15,0	0,3
S37	265	23	33	6	636	142	14,5	0,5
S43	312	4	33	1	645	64	15,5	0,3
S41	261	10	32	3	738	68	13,4	0,3
S42	269	7	22	1	626	41	13,3	0,3

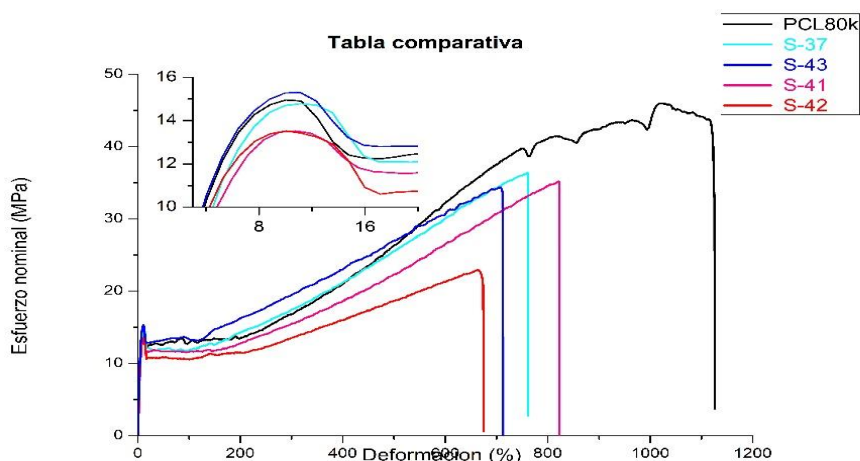


Figura 3.11. Curvas de análisis tracción de las muestras PCL-80K, S37, S41, S42 y S43

Se puede observar como el material deforma a través de un proceso de estirado en frío con formación de cuello. Los puntos de fluencia aparecen aproximadamente constantes en los materiales fabricados y son ligeramente inferiores al que presenta la PCL-80k comercial. Las muestras tras alcanzar el punto de fluencia, empiezan a deformar permanentemente a través de cuello, posteriormente presentan un endurecimiento por deformación debido a la orientación, separación y desenredo que se produce en las

laminillas cristalinas. El módulo de Young permanece también aproximadamente constante en las muestras y son también inferiores a la de PCL-80k. No obstante, hay que resaltar el valor del módulo de la muestra B43 con mayor concentración en segmento duro HDI-BD. Esta muestra presenta un valor mayor, esto puede ser debido a la cristalinidad del segmento duro que se produce en la muestra.

Hay que comentar también que las muestras tienen una deformación a rotura y punto de fluencia similares. No se ha modificado en gran medida las propiedades mecánicas de los materiales fabricados en comparación a la PCL, esto es debido a que, además de encontrarse el segmento duro en bajas concentraciones, el tamaño de segmento blando es tan elevado que conserva su capacidad de cristalizar.

A continuación, se procedido a analizar las propiedades de humectabilidad del material a través de ángulo de contacto. Los resultados obtenidos han sido los siguientes.

Tabla 3.8. Valores de ángulo de contacto de medidos a 4 y 60 segundos de las muestras S42, S43, PCL80k y PCL10k

Muestra	t=4				t=60s			
	Izq		Dch		Izq		Dch	
	Media	Desv Std	Media	Desv Std	Media	Desv Std	Media	Desv Std
S-42	87	2	87	1	79	2	79	1
S-43	91	3	92	4	85	4	86	5
PCL10k	83	1	83	2	-	-	-	-
PCL80k	79	7	79	6	-	-	-	-

Se puede observar en el resultado de las medidas como los materiales fabricados son ligeramente más hidrófobos que la PCL10k de partida (film fabricado por prensa) y que la PCL80k. No obstante, sí se ha observado una ligera mejora en la hidrofilia en la muestra S42, con segmento duro HDI-IMI, con respecto a su homónima S43, con segmento duro HDI-BD. En el caso de las muestras con segmento duro HDI-BD no se esperaba ninguna mejora en su humectabilidad puesto que no se está incorporando ningún grupo que pueda ejercer un cambio significativo en la hidrofilia del material. En el caso el caso de las muestras con segmento duro HDI-IMI, la conservación de hidrofobicidad del material puede deberse a la baja concentración en la que se encuentra la molécula de imidazol o al papel que juega el contra-ión Br^- reduciendo las cargas coulombicas y haciendo que conserve su hidrofobicidad[2].

Por último, se ha medido la degradación que sufren los materiales al cabo de un tiempo en un medio de disolución de PBS pH 7,4.

Tabla 3.8. Código de muestra y peso (mg) antes y después de la inmersión en PBS

Muestra	37		41		PCL	
	Peso 0 dias	Peso 45 dias	Peso 0 dias	Peso 45 dias	Peso 0 dias	Peso 45 dias
1	26,5	26,6	26,1	26,1	26,4	26,8
2	26,8	26,6	30,8	30,8	23,9	24,1
3	27,7	27,8	23,5	23,3	28,4	28,6

Se puede observar como el material no sufre degradación debido a ser un material altamente cristalino y a su hidrofobicidad[1, 11].

En relación a los objetivos planteados en la modificación de la PCL, se ha conseguido la incorporación de la molécula iónica a la cadena de la PCL y, al mismo tiempo, este segmento blando ha mantenido su capacidad de cristalización. En cuanto a la cristalización de este segmento, se ha producido una disminución en el punto de fusión, lo que podría mejorar su procesabilidad. En cuanto a sus propiedades superficiales como la humectabilidad, no se ha obtenido un cambio significativo. En cuanto a sus propiedades térmicas y mecánicas, se observa como el segmento HDI-IMI mejora la estabilidad térmica a menores concentraciones, en cuanto a las mecánicas, no se ha observado una variación significativa de ellas.

Actualmente se está analizando el efecto en la citotoxicidad (MTT) resultante de la incorporación de los segmentos duros en las cadenas de PCL con respecto a la PCL sin modificar. Como continuación a este proyecto, se propone el uso de un segmento blando de PCL de menor peso molecular (M_n de 2000 o 500) o incluso realizar la síntesis a partir de una reacción de apertura de anillo de ϵ -caprolactona y estudiar la influencia en las propiedades de humectabilidad, térmicas y mecánicas.

4. Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en la realización de este proyecto han sido:

- Se sintetizó con éxito la molécula iónica y su incorporación a la cadena de PCL.
- No se ha producido variación en la humectabilidad del material.
- Se ha conseguido un desplazamiento en el punto de fusión del material de aproximadamente 10°C al incorporar HDI-IMI, lo que puede mejorar su procesabilidad. Se tiene también un desplazamiento de la T_g a temperaturas próximas a los -15°C a mayores concentraciones de HDI-IMI.
- Se han mantenido las propiedades mecánicas y la degradabilidad de la PCL al mantener la capacidad de cristalización del segmento blando y no conseguir una variación significativa en las propiedades de humectabilidad del material.

6. Bibliografía

- [1] F. Hajiali, S. Tajbakhsh, et al., Fabrication and Properties of Polycaprolactone Composites Containing Calcium Phosphate-Based Ceramics and Bioactive Glasses in Bone Tissue Engineering: A Review, *Polymer Reviews* 58(1) (2018) 164-207.
- [2] D. Mecerreyes, Polymeric ionic liquids: Broadening the properties and applications of polyelectrolytes, *Progress in Polymer Science* 36(12) (2011) 1629-1648.
- [3] B. K. Keppler, W. Rupp, et al., Synthesis, molecular structure, and tumor-inhibiting properties of imidazolium trans-bis(imidazole)tetrachlororuthenate(III) and its methyl-substituted derivatives, 1987.
- [4] D. Zhang, H. Kawaguchi, Deprotonation Attempts on Imidazolium Salt Tethered by Substituted Phenol and Construction of Its Magnesium Complex by Transmetalation, *Organometallics* 25(22) (2006) 5506-5509.
- [5] C.M.L. Schrekker, Y.C.A. Sokolovicz, et al., Multitask Imidazolium Salt Additives for Innovative Poly(l-lactide) Biomaterials: Morphology Control, Candida spp. Biofilm Inhibition, Human Mesenchymal Stem Cell Biocompatibility, and Skin Tolerance, *ACS Applied Materials & Interfaces* 8(33) (2016) 21163-21176.
- [6] G. Renlong, Z. Mingqiang, et al., Polyurethanes Containing an Imidazolium Diol-Based Ionic-Liquid Chain Extender for Incorporation of Ionic-Liquid Electrolytes, *Macromolecular Chemistry and Physics* 214(9) (2013) 1027-1036.
- [7] N.R. Dhumal, K. Noack, et al., Molecular Structure and Interactions in the Ionic Liquid 1-Ethyl-3-methylimidazolium Bis(Trifluoromethylsulfonyl)imide, *The Journal of Physical Chemistry A* 118(13) (2014) 2547-2557.
- [8] Z. Fan, J. Chen, et al., In situ monitoring the moisture absorption of three ionic liquids with different halogen anions by ATR-FTIR spectroscopy, *Journal of Molecular Structure* 1164 (2018) 297-302.
- [9] N. Ikpo, S.M. Barbon, et al., Aluminum Methyl and Chloro Complexes Bearing Monoanionic Aminephenolate Ligands: Synthesis, Characterization, and Use in Polymerizations, *Organometallics* 31(23) (2012) 8145-8158.
- [10] S.N. Gorodzha, M.A. Surmeneva, et al., Fabrication and characterization of polycaprolactone cross-linked and highly-aligned 3-D artificial scaffolds for bone tissue regeneration via electrospinning technology, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 98(1) (2015) 012024.
- [11] R.S. Tıǧlı, N.M. Kazaroǧlu, et al., Cellular Behavior on Epidermal Growth Factor (EGF)-Immobilized PCL/Gelatin Nanofibrous Scaffolds, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 22(1-3) (2011) 207-223.
- [12] Z. Xuefeng, Z. Tianzhu, et al., The surface modification of medical polyurethane to improve the hydrophilicity and lubricity: The effect of pretreatment, *Journal of Applied Polymer Science* 116(3) (2010) 1284-1290.
- [13] O. Persenaire, M. Alexandre, et al., Mechanisms and Kinetics of Thermal Degradation of Poly(ϵ -caprolactone), *Biomacromolecules* 2(1) (2001) 288-294.
- [14] J. Simon, F. Barla, et al., Thermal stability of polyurethanes, *Chromatographia* 25(2) (1988) 99-106.
- [15] J.P.B. Roa, V. Mano, et al., S ntese e caracteriza  o do copol mero poli(3-hidroxibutirato-co- -caprolactona) a partir de poli (3-hidroxibutirato) e poli( -caprolactona), *Pol meros* 20 (2010) 221-226.
- [16] K.J. V., L.R. D., Lactone polymers. I. Glass transition temperature of poly- -caprolactone by means on compatible polymer mixtures, *Journal of Polymer Science Part A-2: Polymer Physics* 7(5) (1969) 795-807.